

27.10.2004

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

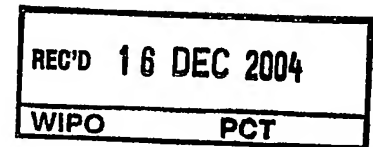
別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日
Date of Application: 2 0 0 4 年 7 月 1 3 日

出 願 番 号
Application Number: 特 願 2 0 0 4 - 2 0 5 6 8 2
[ST. 10/C]: [J P 2 0 0 4 - 2 0 5 6 8 2]

出 願 人
Applicant(s): 帝人株式会社

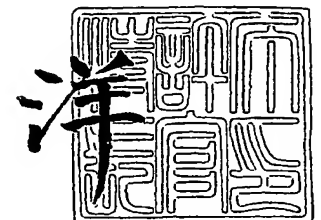


PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

2 0 0 4 年 1 2 月 3 日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

小 川



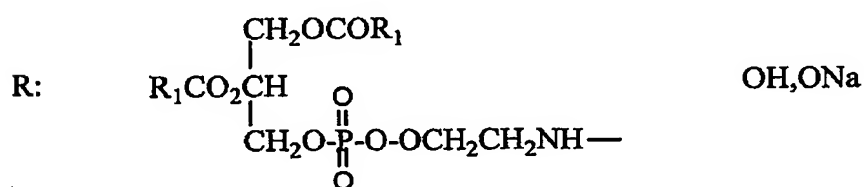
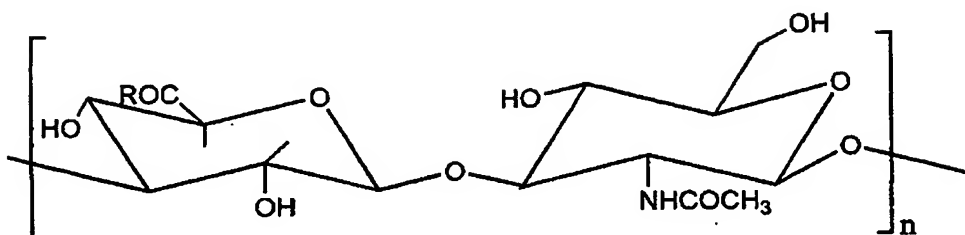
【書類名】 特許願
【整理番号】 P37890
【提出日】 平成16年 7月13日
【あて先】 特許庁長官殿
【国際特許分類】 A61L 27/00
A61L 31/00
【発明者】
 【住所又は居所】 東京都日野市旭が丘 4 丁目 3 番 2 号 帝人株式会社 東京研究セ
 ンター内
 【氏名】 北 蘭 英一
【発明者】
 【住所又は居所】 東京都日野市旭が丘 4 丁目 3 番 2 号 帝人株式会社 東京研究セ
 ンター内
 【氏名】 兼 子 博章
【発明者】
 【住所又は居所】 東京都武蔵野市中町 3 - 4 - 9
 【氏名】 続 佐紀
【特許出願人】
 【識別番号】 000003001
 【氏名又は名称】 帝人株式会社
【代理人】
 【識別番号】 100099678
 【弁理士】
 【氏名又は名称】 三 原 秀子
【手数料の表示】
 【予納台帳番号】 206048
 【納付金額】 16,000円
【提出物件の目録】
 【物件名】 特許請求の範囲 1
 【物件名】 明細書 1
 【物件名】 要約書 1
 【包括委任状番号】 0203001

【書類名】 特許請求の範囲

【請求項 1】

下記式 (1) で表されるヒアルロン酸とホスファチジルエタノールアミン及びその誘導体とからなる化合物であって、

【化 1】



. (1)

(n は、300～30,000 の整数である。R は OH, ONa、または上記構造式のホスファチジルエタノールアミン及びその誘導体であり、R₁ は夫々同時または別個に置換または無置換の炭素数 10～28 のアルキル基もしくはアルケニル基を示す。) ホスファチジルエタノールアミン及びその誘導体残基の含有量が、ヒアルロン酸のカルボキシル基 100 当量に対し、51～100 当量であるヒアルロン酸化合物。

【請求項 2】

該ホスファチジルエタノールアミン及びその誘導体が、ジオレオイルホスファチジルエタノールアミンである請求項 1 記載のヒアルロン酸化合物。

【請求項 3】

請求項 1 または 2 記載のヒアルロン酸化合物を成型することによって得られる成型体。

【書類名】明細書

【発明の名称】ヒアルロン酸化合物及びその成型体

【技術分野】

【0001】

本発明は、ヒアルロン酸とホスファチジルエタノールアミン及びその誘導体とからなるヒアルロン酸化合物、さらにその成型体に関する。

【背景技術】

【0002】

ヒアルロン酸はその優れた保水能力、粘弾性及び高い生体親和性を示すため、膝関節機能改善剤、点眼剤等に利用されている。しかしその一方、ヒアルロン酸は生体吸収が速いという点から使用範囲が制限されているという面もある（非特許文献1、非特許文献2、非特許文献3）。つまり、ヒアルロン酸の水性液体に対する不溶化を検討することは非常に重要であると言える。ここで言う水性液体とは、水、生理食塩水、緩衝液およびアルコールなど有機溶媒を含有する水溶液を意味する。また不溶化とは、ある一定期間ヒアルロン酸が体内に滞留し、その後は徐々に分解が進み、最終的には生体吸収されることを意味する。そこでこれらの課題を解決するために、これまで様々なヒアルロン酸誘導体が合成されている。例えば、ベンジルエステル化ヒアルロン酸（特許文献1、非特許文献1、非特許文献2、非特許文献3）、また、ビスエポキシド（特許文献2）、ジビニルスルホン（特許文献3、特許文献4）、ホルムアルデヒド（特許文献5）、ヒドラジドで架橋されたヒアルロン酸誘導体が挙げられる。しかし、これらの誘導体を合成するのに用いる化合物はいずれも非天然物質であり、生体に対する毒性及び炎症性が懸念される。

【0003】

【特許文献1】米国特許第5939323号明細書

【特許文献2】特開平7-97401号公報

【特許文献3】米国特許第4582865号明細書

【特許文献4】米国特許第4605691号明細書

【特許文献5】特開昭60-130601号公報

【非特許文献1】J. Biomed. Mater. Res. 42:2, 172-81 (1998)

【非特許文献2】J. Biomed. Mater. Res. 46:3, 337-346 (1999)

【非特許文献3】J. Ortho. Res. 18:5, 773-380 (2000)

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

生体に適用した場合においても安全で、また水性液体に対して不溶性を示すヒアルロン酸化合物を提供する。

【課題を解決するための手段】

【0005】

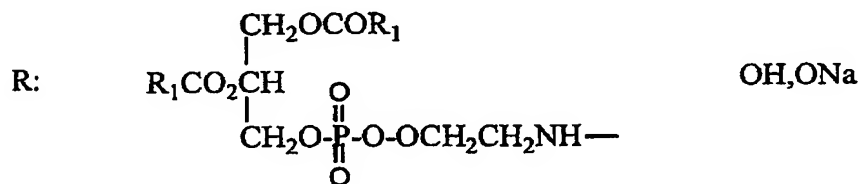
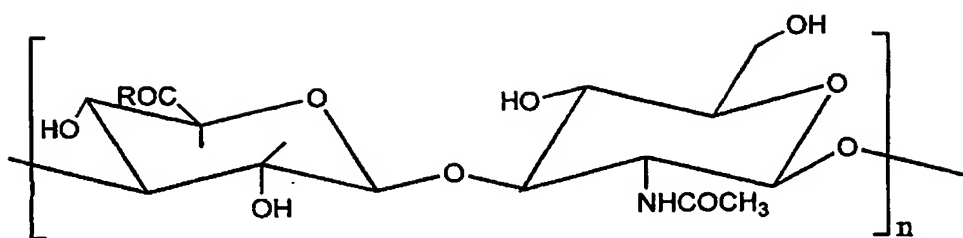
本発明の発明者は、生体由来物質でありかつ安全性に優れたホスファチジルエタノールアミン及びその誘導体が、ヒアルロン酸の水性液体に対する不溶化に有効であることを見出し本発明に到達した。

【0006】

本発明は以下の通りである。

1. 下記一般式(1)で表されるヒアルロン酸とホスファチジルエタノールアミン及びその誘導体とからなる化合物であって、

【化1】



. (1)

(nは、300～30,000の整数である。RはOH, ONaまたは上記構造式のアセチルヒアルロン酸誘導体であり、R₁は夫々同時または別個に置換または無置換の炭素数10～28のアルキル基もしくはアルケニル基を示す。)

アセチルヒアルロン酸誘導体残基の含有量が、ヒアルロン酸のカルボキシル基100当量に対し、51～100当量であるアセチルヒアルロン酸化合物。

2. 該アセチルヒアルロン酸誘導体及びその誘導体が、ジオレイルアセチルヒアルロン酸誘導体である1記載のアセチルヒアルロン酸化合物。

3. 1または2記載のアセチルヒアルロン酸化合物を成型することによって得られる成型体。

【発明の効果】

【0007】

本発明は、ヒアルロン酸とアセチルヒアルロン酸誘導体及びその誘導体とからなるアセチルヒアルロン酸化合物、さらにその成型体に関する。このアセチルヒアルロン酸化合物は水性液体に対し不溶性を示し、関節軟骨治療用材料、癒着防止材、皮膚の保湿材料などに有用であると考えられる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0008】

以下、本発明について詳述する。なお、これらの実施例等および説明は本発明を例示するものであり、本発明の範囲を制限するものではない。本発明の趣旨に合致する限り他の実施の形態も本発明の範疇に属し得ることは言うまでもない。

【0009】

本発明で使用されているヒアルロン酸は、動物組織から抽出したもの、または発酵法で製造したものどちらでも使用できる。発酵法で使用する菌株はストレプトコッカス属のヒアルロン酸生産能を有する微生物であり、ストレプトコッカス・エクイFM-100(特開昭63-123392号公報)、ストレプトコッカス・エクイFM-300(特開平2-234689号公報)が挙げられる。これらの変異株を用いて培養、精製されたものを用いることができる。またヒアルロン酸の分子量は、約 $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^7$ のものが好ましい。なお本発明でいうヒアルロン酸は、そのアルカリ金属塩、例えば、ナトリウム、カリウム、リチウムの塩をも包含する。

【0010】

本発明で使用されているアセチルヒアルロン酸誘導体及びその誘導体は、動物組織から抽出したもの、または合成して製造したものどちらでも使用できる。アセチルヒアルロン酸誘導体及びその誘導体として以下のものが挙げられる。ジラウロイルアセチルヒアルロン酸誘導体、ジミリスチルアセチルヒアルロン酸誘導体、ジパルミト

イルホスファチジルエタノールアミン、ジステアロイルホスファチジルエタノールアミン、ジアラキドイルホスファチジルエタノールアミン、ジベヘノイルホスファチジルエタノールアミン、ジリグノセロイルホスファチジルエタノールアミン、ジセロチオイルホスファチジルエタノールアミン、ジモンタノイルホスファチジルエタノールアミン、ジラウロオレオイルホスファチジルエタノールアミン、ジミリストオレオイルホスファチジルエタノールアミン、ジパルミトオレオイルホスファチジルエタノールアミン、ジオレオイルホスファチジルエタノールアミン、ジネルボノイルホスファチジルエタノールアミン、ジキメノイルホスファチジルエタノールアミン、ジリノレノイルホスファチジルエタノールアミン、ジヒラゴノイルホスファチジルエタノールアミン、ジアラキドノイルホスファチジルエタノールアミン、ジドコサヘキサエノイルホスファチジルエタノールアミン。

【0011】

上記式(1)のRにおいて、R1は夫々同時または別個に置換または無置換の炭素数10~28のアルキル基もしくはアルケニル基であるが、なかでも炭素数14~20が好ましい。

その中でも、合成する際に使用する有機溶媒への溶解性の面からジオレオイルホスファチジルエタノールアミンが好ましい。

上記式(1)のRにおいて、nは、300~30,000であるが、なかでもnは1,000~10,000が好ましい。

【0012】

ホスファチジルエタノールアミンの含有量及びその誘導体は、水性液体に対し十分な不溶性を示すためには、ヒアルロン酸のカルボキシル基100当量に対し、51~100当量である。

【0013】

本発明でいう成型体とは、多孔体(スポンジ)、不織布、フィルムなどを挙げることができる。

本発明に用いる成型体を製造する方法としては、先述の特性を満たす成型体を得られる手法であれば特に限定されないが、凍結乾燥法、乾式製膜、湿式製膜、凝固紡糸、スパンボンド法、メルトブロー法、フラッシュ紡糸法などが挙げられる。

【実施例】

【0014】

以下の実施例により本発明の詳細をより具体的に説明する。しかし、本発明はこれら実施例に限定されるものではない。

本実施例に使用したヒアルロン酸ナトリウムはストレプトコッカス属由来の平均分子量が1,000,000のヒアルロン酸ナトリウムであり、これは $n=3,500$ に相当する。その他の試薬については、テトラヒドロフラン、0.1M HCl、0.1M NaOH、1-Ethyl-3-[3-(dimethylamino)propyl]-carbodiimide (EDC)、1-Hydroxybenzotriazole (HOBt)、L-leucine methyl ester hydrochloride、リン酸緩衝生理食塩水は、和光純薬工業(株)、L- α -ジオレオイルホスファチジルエタノールアミン(COATSOME ME-8181)は日本油脂(株)、のものを使用した。

【0015】

【実施例1】

ヒアルロン酸ナトリウム100mgをテトラヒドロフラン/水=1/1(v/v)の水溶液40mlに溶解した。この溶液に、L- α -ジオレオイルホスファチジルエタノールアミン154mg(0.00021mol)(ヒアルロン酸のカルボキシル基100当量に対し70当量)を加え、0.1M HCl/0.1M NaOHを添加し、pH 6.8に調整した。1-Ethyl-3-[3-(dimethylamino)propyl]-carbodiimide (EDC) 42mg(0.000231mol)、1-hydroxybenzotriazole (HOBt) 35mg(0.000231mol)

をテトラヒドロフラン／水＝1／1(v／v)10mlに溶解し反応系に添加した。その際0.1MNaOHを加え反応系をpH 6.8に保持した。その後終夜攪拌を行い、攪拌後透析を3日間行い凍結乾燥し目的物(スポンジ)を得た。確認は¹HNMR(日本電子JNM-alpha400)により行い、目的物の生成を確認した。

【0016】

以下の方法により溶解性テストを行った。得られた目的物20mgをリン酸緩衝生理食塩水5ml中に浸漬し、室温静置状態での溶解性について4週間テストを行い、目視で確認を行った。溶解性テストの結果を表1に示す。

【0017】

[実施例2]

L-α-ジオレオイルホスファチジルエタノールアミン223mg(0.0003mol)(ヒアルロン酸のカルボキシル基100当量に対し100当量)、1-Ethyl-3-[3-(dimethylamino)propyl]-carbodiimide(EDC)60mg(0.00033mol) 1-hydroxybenzo-triazole(HOBT)50mg(0.00033mol)とした以外は、実施例1と同様に目的物(スポンジ)を得た。溶解性テストの結果を表1に示す。

【0018】

[比較例1]

ヒアルロン酸ナトリウム20mgをリン酸緩衝生理食塩水5ml中に浸漬し、室温静置状態での溶解性について4週間テストを行い、目視で確認を行った。結果を表1に示す。

【0019】

[比較例2]

L-α-ジオレオイルホスファチジルエタノールアミン66mg(0.00009mol)(ヒアルロン酸のカルボキシル基100当量に対し30当量)、1-Ethyl-3-[3-(dimethylamino)propyl]-carbodiimide(EDC)18mg(0.000099mol) 1-hydroxybenzo-triazole(HOBT)15mg(0.000099mol)とした以外は、実施例1と同様に成形体を得た。溶解性テストの結果を表1に示す。

【0020】

【表1】

表1. ヒアルロン酸化合物の溶解性テスト結果

	L-α-ジオレオイルホスファチジルエタノールアミンの含有量(当量) ¹⁾	1 day	1 weeks	2 weeks	4 weeks
実施例1	70	○	○	○	○
" 2	100	○	○	○	○
比較例1	0	×	×	×	×
" 2	30	△	×	×	×

○: 溶解していない、△: 一部溶解、×: 完全溶解

1) ヒアルロン酸のカルボキシル基100当量に対する量

【0021】

表1より、ヒアルロン酸-L-α-ジオレオイルホスファチジルエタノールアミン(含有量: 70、100当量)は、ヒアルロン酸ナトリウム、ヒアルロン酸-L-α-ジオレオイルホスファチジルエタノールアミン(含有量: 30当量)と比較し、水性液体に対するヒアルロン酸の不溶化が進んでいることが明らかである。

【産業上の利用可能性】

【0022】

上記ヒアルロン酸化合物は、ヒアルロン酸の滞留性を高めることが重要と思われる用途、具体的には関節軟骨治療用の材料、癒着防止材、皮膚の保湿材料などに有用であると考



えられる。

【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 生体に適用した場合においても安全で、また水性液体に対して不溶性を示すヒアルロン酸化合物を提供する。

【解決手段】 ヒアルロン酸とホスファチジルエタノールアミン及びその誘導体とからなる化合物であってホスファチジルエタノールアミン及びその誘導体残基の含有量が、ヒアルロン酸のカルボキシル基 100 当量に対し、51～100 当量であるヒアルロン酸化合物。

【選択図】 なし

特願 2 0 0 4 - 2 0 5 6 8 2

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[0 0 0 0 0 3 0 0 1]

1. 変更年月日

1 9 9 0 年 8 月 2 8 日

[変更理由]

新規登録

住 所

大阪府大阪市中央区南本町 1 丁目 6 番 7 号

氏 名

帝人株式会社